复合抗菌肽对山羊瘤胃发酵和酶活性的影响

高　爽　邓俊良* 陈　芸　杨颜铱　刘　旗　陈　憧　任志华　左之才　王　娅　崔恒敏

（四川农业大学动物医学院，动物疫病与人类健康重点实验室，环境公害与动物疾病四川省高校重点实验室，成都 611130）

摘　要：本试验旨在探讨复合抗菌肽对饲喂不同精料饲粮山羊瘤胃发酵和酶活性的影响。选取 18 只 4 月龄雄性山羊，随机分 3 组，每组 6 只。对照组（Ⅰ组）、高精料组（Ⅱ组）、高精料抗菌肽组（Ⅲ组）分别饲喂精料 300、600 和 600 g/（只•d），同时Ⅲ组在精料中添加 3.0 g/（只•d）复合抗菌肽。试验期为 60 d。结果表明：1）与Ⅰ组相比，Ⅱ组瘤胃液乙酸、总挥发性脂肪酸（T-VFA）、甲烷（CH_4）、氨态氮（NH_3-N）、尿素氮、微生物蛋白（MCP）浓度与（乙酸+丁酸）/丙酸及木聚糖酶、脂肪酶活性极显著或显著增加（P<0.01 或 P<0.05），羧甲基纤维素酶（CMCase）、β-葡萄糖苷酶和淀粉酶活性极显著或显著降低（P<0.01 或 0.05），丙酸、丁酸浓度及果胶酶、中性蛋白酶活性无显著变化（P>0.05）。2）与Ⅱ组相比，Ⅲ组瘤胃液丙酸、丁酸、NH_3-N 浓度及 CMCase、果胶酶、中性蛋白酶及脂肪酶活性无显著变化（P>0.05），乙酸、T-VFA、CH_4、尿素氮浓度与（乙酸+丁酸）/丙酸及木聚糖酶活性极显著或显著降低（P<0.01 或 P<0.05），MCP 浓度及 β-葡萄糖苷酶、淀粉酶活性极显著或显著增加（P<0.01 或 P<0.05）。由此说明，复合抗菌肽可调节山羊瘤胃发酵模式，提高饲料利用率，是理想的饲料添加剂。

关键词：复合抗菌肽；瘤胃发酵；酶活性；山羊

中图分类号：S816　　　　文献标识码：A　　　　文章编号：

抗菌肽(AMPs)是基因编码或在外界因素诱导下用于对抗外源性病原体入侵的一类防御性活性多肽类物质，具有抗细菌、真菌、病毒、寄生虫、肿瘤等作用[1-3]。由于抗菌肽在结构和来源上存在差异性，其作用机理有所不同，膜作用机制和胞内作用机制是人们普遍认同的两类机制[4]，前者主要包括桶板模型、毯式模型、环形孔模型和凝聚模型，后者分为抑制细胞呼吸、抑制大分子（DNA、RNA 和蛋白质）的合成、抑制酶活性以及抑制细胞分裂、细胞壁和隔膜的形成[5-6]。研究发现，抗菌肽可促进仔猪[7]和肉鸡[8]肠道发育和肠道营养物质

收稿日期：2016-12-07

基金项目："长江学者和创新团队发展计划"创新团队项目（IRT0848）；四川农业大学双支计划（3571537）

作者简介：高　爽（1993-），女，满族，辽宁锦州人，硕士研究生，研究方向为中西兽医与临床。E-mail： 18283542011@163.com

*通信作者：邓俊良，教授，博士生导师，E-mail： dengjl213@126.com

的吸收，调节肠道微生物菌群结构，改善肠道内环境，提高生产性能。目前已有作为饲料添加剂的抗菌肽商品应用于提高奶牛生产性能和防治奶牛乳房炎等方面[9-10]，但尚未见其在瘤胃中作用的相关报道。瘤胃是反刍动物最重要的消化器官之一，瘤胃发酵调控一直是反刍动物研究的重点。已证实益生菌、植物提取物和瘤胃素等均可调控瘤胃发酵，提高营养物质利用率。从抗菌肽的生物学功能和机制中我们推测，抗菌肽也会影响瘤胃某些微生物的活性，进而影响瘤胃内环境，是一种潜在的新型饲料添加剂。因此本试验拟研究复合抗菌肽对山羊瘤胃发酵和酶活性的影响，为其在反刍动物生产中的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

复合抗菌肽由猪防御素（37 个氨基酸）和苍蝇抗菌肽（40 个氨基酸）混合而成，各占 50%，由四川华德生物工程有限公司提供，规格为 500 g/袋。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

选取 18 只 4 月龄体重[（16.13±0.64） kg]相近健康雄性川中黑山羊，预饲 2 周后开始正式试验。将 18 只山羊随机分为 3 组，每组 6 只。对照组（Ⅰ组）、高精料组（Ⅱ组）、高精料抗菌肽组（Ⅲ组）分别饲喂 300、600 和 600 g/（只•d）精料，同时Ⅲ组在精料中添加 3.0 g/（只•d）复合抗菌肽。试验羊每天 09:00 和 18:00 分别等量饲喂精料 1 次，在精料中添加复合抗菌肽，自由采食收割山杂草，自由饮水，单栏群养。试验期为 60 d。试验用精料组成及营养水平见表 1。

表 1 精料组成及营养水平（干物质基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the concentrate （DM basis）

原料 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrient levels	含量 Content
玉米 Corn grain	51	消化能 DE/(MJ/kg)	13.34
麦麸 Barley grain	23	干物质 DM	84.27
菜籽粉 Rapeseed meal	10	粗蛋白质 CP	16.66
豆粕 Soybean meal	10	粗纤维 CF	4.17
鱼粉 Fish meal	3	中性洗涤纤维 NDF	13.72
食盐 NaCl	1	酸性洗涤纤维 ADF	6.91
预混料 Premix	2		
合计 Total	100		

预混料为每千克精料提供 Premix provides the following per kg of the concentrate：Fe (as ferrous sulfate) 30 mg，Cu (as copper sulfate) 10 mg，Zn (as zinc sulfate) 50 mg，Mn (as manganese sulfate) 60 mg，VA 2 937 IU，VD 343 IU，VE 30 IU。

1.2.2 瘤胃液的采集与指标检测

分别于试验第 20 天、第 40 天和第 60 天每组随机选 4 只羊，晨饲前用负压器材和胃管收集瘤胃液 50 mL，4 层纱布过滤后分装于 5 mL 离心管中，保存在-80 ℃冰箱内待测。瘤胃液各挥发性脂肪酸（volatile fatty acids，VFA）浓度采用瓦里安（CP-3800）气相色谱仪检测，具体方法参照 Luo 等[11]的方法进行；瘤胃液甲烷（CH_4）浓度根据 Moss 等[12]推倒出的公式 $CH_4=(1.8C_2-1.1C_3+1.6C_4)/4=0.45C_2-0.275C_3+0.40C_4$ 计算，式中 C_2 为乙酸浓度(mmol/L)，C_3 为丙酸浓度(mmol/L)，C_4 为丁酸浓度(mmol/L)。瘤胃液氨态氮（NH_3-N）浓度采用苯酚-次氯酸钠比色法[13]测定；瘤胃液微生物蛋白（MCP）浓度采用三氯乙酸(TCA)蛋白质沉淀法[AOAC（1990）]测定；瘤胃液尿素氮浓度以及木聚糖酶、果胶酶、β-葡萄糖苷酶、羧甲基纤维素酶、中性蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性均采用试剂盒检测，其中尿素氮、淀粉酶、脂肪酶检测试剂盒为南京建成生物工程研究所产品，羊用木聚糖酶、果胶酶、β-葡萄糖苷酶和羧甲基纤维素酶酶联免疫吸附试验（ELISA）检测试剂盒为美国 RD 公司产品。

1.3 数据处理与分析

所得试验数据先经 Excel 2010 处理，用 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析，Duncan 氏法进行多重比较，试验结果用平均值±标准差（mean±SD）表示。

2 结果与分析

2.1 山羊瘤胃发酵参数的变化

由表 2 可见，试验期内各组山羊瘤胃液总挥发性脂肪酸（T-VFA）浓度均随饲喂时间的延长而逐渐降低，且在各时间点均表现为Ⅱ组极显著高于Ⅰ和Ⅲ组（$P<0.01$），Ⅰ和Ⅲ组差异不显著（$P>0.05$）。各组山羊瘤胃液乙酸浓度随饲喂时间的变化趋势与 T-VFA 浓度变化趋势相一致，同时在各时间点也均表现为Ⅱ组极显著高于Ⅰ和Ⅲ组（$P<0.01$），Ⅰ和Ⅲ组差异不显著（$P>0.05$）。各组山羊瘤胃液丙酸浓度也随饲喂时间的延长而逐渐降低，在各时间点各组山羊瘤胃液丙酸浓度差异均不显著（$P>0.05$），但在数值上Ⅲ组高于Ⅰ和Ⅱ组.。在第 20 天时山羊瘤胃液丁酸浓度表现为Ⅱ组极显著高于Ⅰ和Ⅲ组（$P<0.01$），在其他时间点各组间差异不显著（$P>0.05$）。山羊瘤胃液（乙酸+丁酸）/丙酸和 CH_4 浓度变化趋势一致，在各时间点均表现为Ⅱ组极显著高于Ⅰ和Ⅲ组（$P<0.01$），Ⅰ和Ⅲ组差异均不显著（$P>0.05$），但在数值上Ⅲ组低于Ⅰ组。

表 2　山羊瘤胃发酵参数的变化

Table 2　Changes of ruminal fermentation characteristics of goats

项目 Items	时间点 Time points	组别 Groups		
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ

总挥发性脂肪酸 T-VFA/(mmol/L)	第 20 天 Day 20	69.22±1.25^{Bb}	86.97±1.64^{Aa}	72.67±2.04^{Bb}
	第 40 天 Day 40	65.38±2.12^{Bb}	81.76±1.75^{Aa}	66.05±1.56^{Bb}
	第 60 天 Day 60	63.97±1.52^{Bb}	69.03±1.91^{Aa}	62.57±1.45^{Bb}
乙酸 Acetate /（mmol/L）	第 20 天 Day 20	46.21±1.50^{Bb}	61.52±1.94^{Aa}	48.58±1.50^{Bb}
	第 40 天 Day 40	43.03±2.09^{Bb}	58.24±2.39^{Aa}	43.09±1.72^{Bb}
	第 60 天 Day 60	41.94±1.36^{Bb}	46.91±1.54^{Aa}	40.13±1.33^{Bb}
丙酸 Propionate/（mmol/L）	第 20 天 Day 20	14.38±0.48	15.26±0.62	15.47±0.76
	第 40 天 Day 40	13.49±0.52	13.98±0.53	14.15±0.61
	第 60 天 Day 60	13.24±0.47	12.88±0.50	13.46±0.52
丁酸 Butyrate/（mmol/L）	第 20 天 Day 20	8.64±0.44^{Bb}	10.19±0.50^{Aa}	8.61±0.46^{Bb}
	第 40 天 Day 40	8.85±0.25	9.53±0.47	8.81±0.40
	第 60 天 Day 60	8.79±0.34	9.24±0.19	8.98±0.15
(乙酸+丁酸)/丙酸（Acetate+butyrate）/propionate	第 20 天 Day 20	3.82±0.17^{Bb}	4.70±0.22^{Aa}	3.71±0.21^{Bb}
	第 40 天 Day 40	3.85±0.20^{Bb}	4.86±0.32^{Aa}	3.68±0.25^{Bb}
	第 60 天 Day 60	3.84±0.21^{Bb}	4.36±0.13^{Aa}	3.65±0.20^{Bb}
甲烷 CH_4/（mmol/L）	第 20 天 Day 20	20.30±0.64^{Bb}	27.59±0.71^{Aa}	21.05±0.76^{Bb}
	第 40 天 Day 40	19.20±0.90^{Bb}	26.18±1.07^{Aa}	19.03±0.96^{Bb}
	第 60 天 Day 60	18.75±0.77^{Bb}	21.67±0.62^{Aa}	17.95±0.69^{Bb}

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（P<0.05），不同大写字母差异极显著（P<0.01）。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), and with different capital letter superscripts mean significant difference (P>0.01). The same as below.

2.2 山羊瘤胃液氮素浓度变化

由表 3 可知，各组山羊瘤胃液 NH_3-N 浓度随饲喂时间的延长而逐渐升高。在第 20 天和第 60 天，Ⅱ、Ⅲ组山羊瘤胃液 NH_3-N 浓度极显著或显著高于Ⅰ组（P<0.01 或 P<0.05），Ⅲ组显著低于Ⅱ组（P<0.05）；在第 40 天，各组间山羊瘤胃液 NH_3-N 浓度差异不显著（P>0.05）。在第 20 天，各组山羊瘤胃液 MCP 浓度差异不显著（P>0.05）；在第 40 天和 60 天，Ⅱ、Ⅲ组山羊瘤胃液 MCP 浓度极显著或显著高于Ⅰ组（P<0.01 或 P<0.05），Ⅲ组显著高于Ⅱ组（P<0.05）。各组山羊瘤胃液尿素氮浓度随饲喂时间的延长而逐渐升高，且在第 20 天时表现为Ⅱ组极显著高于Ⅰ和Ⅲ组（P<0.01 或 P<0.05），在第 40 天和第 60 天时表现为Ⅱ组显著高于Ⅰ和Ⅲ组（P<0.05），同时在各时间点Ⅲ组与Ⅰ组相比均差异不显著（P>0.05）。

表 3 山羊瘤胃液氮素浓度的变化

Table 3 Changes of nitrogen concentrations in rumen fluid of goats

项目 Items	时间点 Time points	组别 Groups		
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ
氨 态 氮	第 20 天 Day 20	7.32±0.15^{Cc}	12.53±0.37^{Aa}	11.95±0.32^{ABb}

NH_3-N/（mg/dL）	第 40 天 Day 40	11.89±0.41	13.70±0.51	13.32±0.58
	第 60 天 Day 60	14.00±0.21^{Cc}	17.79±0.75^{Aa}	16.49±0.44^{ABb}
微生物蛋白 MCP/（mg/mL）	第 20 天 Day 20	2.65±0.47	2.31±0.42	2.39±0.08
	第 40 天 Day 40	2.45±0.12^{Bc}	2.88±0.19^{ABb}	3.24±0.17^{Aa}
	第 60 天 Day 60	2.58±0.17^{Bc}	3.04±0.29^{ABb}	3.59±0.22^{Aa}
尿素氮 Urea nitrogen/(mg/dL)	第 20 天 Day 20	1.96±0.17^{Bb}	3.07±0.53^{Aa}	2.09±0.33^{Bb}
	第 40 天 Day 40	2.46±0.44^{b}	3.60±0.30^{a}	2.48±0.56^{b}
	第 60 天 Day 60	2.59±0.28^{b}	3.82±0.58^{a}	2.63±0.50^{b}

2.3 山羊瘤胃液酶活性变化

由表 4 可知，试验期内各时间点，II 组山羊瘤胃液木聚糖酶活性均极显著或显著高于 I 组（P<0.01 或 P<0.05）；在第 40 天，III组山羊瘤胃液木聚糖酶活性极显著高于 I 组（P<0.01）而与 II 组差异不显著（P>0.05），在第 20 天和第 60 天，III组山羊瘤胃液木聚糖酶活性与 I 组差异不显著（P>0.05），但极显著或显著低于 II 组（P<0.01 或 P<0.05）。在第 20 天，II 组山羊瘤胃液果胶酶活性显著高于 I 组（P<0.05），在其余时间点虽也高于 I 组但差异不显著（P>0.05）；在第 40 天，III组山羊瘤胃液果胶酶活性显著高于 II 组（P<0.05），在其余时间点虽也高于 II 组但差异不显著（P>0.05）。在各时间点 II 组山羊瘤胃液 β-葡萄糖苷酶活性均极显著或显著低于 I 组（P<0.01 或 P<0.05），III组与 I 组差异不显著（P>0.05）。在第 20 天，各组山羊瘤胃液羧甲基纤维素活性差异不显著（P>0.05），在其余时间点 II 和III组均极显著低于 I 组（P<0.01），且 II 组极显著低于III组（P<0.01）。试验期内各时间点，各组间山羊瘤胃液中性蛋白酶和淀粉酶活性差异均不显著（P>0.05）；II、III组脂肪酶活性均极显著高于 I 组（P<0.01），II 和III组差异不显著（P>0.05）。

表 4 山羊瘤胃液酶活性变化

Table 4 Changes of enzyme activities in rumen fluid of goats

项目 Items	时间点 Time points	组别 Groups		
		I	II	III
木聚糖酶 Xylanase/(U/mL)	第 20 天 Day 20	8.53±1.15^{Bb}	15.74±1.71^{Aa}	11.27±1.00^{Bb}
	第 40 天 Day 40	17.21±1.59^{Bb}	29.31±2.50^{Aa}	28.83±2.05^{Aa}
	第 60 天 Day 60	21.25±0.64^{b}	26.73±3.75^{a}	22.94±1.03^{b}
果胶酶 Pectinase /(U/mL)	第 20 天 Day 20	37.42±4.56^{b}	44.23±2.34^{a}	47.35±1.16^{a}

	第 40 天 Day 40	32.36±1.62b	32.92±2.02b	38.77±4.10a
	第 60 天 Day 60	17.19±2.57	20.13±2.15	21.01±1.95
β-葡萄糖苷酶 β-*D*-glucosidase/(U/mL)	第 20 天 Day 20	68.90±4.03a	60.79±2.33b	66.18±3.45ab
	第 40 天 Day 40	65.94±1.62Aa	56.54±3.29Bb	64.05±3.06Aa
	第 60 天 Day 60	59.89±0.49Aa	50.81±3.07Bb	59.33±3.13Aa
羧甲基纤维素酶 CMCase/(U/mL)	第 20 天 Day 20	85.89±2.11	87.38±2.78	88.15±1.26
	第 40 天 Day 40	100.84±2.82Aa	74.47±1.84Cc	85.58±3.45Bb
	第 60 天 Day 60	113.54±3.48Aa	63.99±3.67Cc	72.99±2.47Bb
中性蛋白酶 Neutral protease/[μg/(min·mL)]	第 20 天 Day 20	3.28±0.66	2.74±0.53	3.19±0.30
	第 40 天 Day 40	4.04±0.20	3.38±0.38	3.81±0.26
	第 60 天 Day 60	4.49±0.43	4.15±0.27	4.72±0.41
淀粉酶 Amylase/(U/dL)	第 20 天 Day 20	24.88±0.33	25.59±0.72	25.92±0.53
	第 40 天 Day 40	27.86±1.53	27.91±0.85	28.10±0.83
	第 60 天 Day 60	27.12±0.91	26.26±0.98	27.71±0.90
脂肪酶 Lipase/(U/L)	第 20 天 Day 20	11.53±1.36Bb	18.25±2.15Aa	18.76±0.60Aa
	第 40 天 Day 40	14.89±1.59Bb	23.53±0.48Aa	24.42±0.85Aa
	第 60 天 Day 60	21.13±0.97Bb	32.42±1.62Aa	33.38±1.31Aa

108

3 讨 论

3.1 复合抗菌肽对山羊瘤胃发酵参数的影响

反刍动物对粗饲料具有很强的耐受性，这与瘤胃中微生物的发酵作用密不可分，因此瘤胃内环境的稳定对反刍动物至关重要。碳水化合物在反刍动物瘤胃内微生物的作用下降解为 VFA，其中乙酸、丙酸和丁酸为最主要的 VFA。VFA 是反刍动物最主要的能量来源[14]。瘤胃中的丙酸是合成葡萄糖的前体物质，在肝脏中通过糖异生作用生成葡萄糖，为机体供能；乙酸和丁酸是合成乳脂肪和体脂肪的前体，前者在线粒体基质内与肉碱形成复合物供能，后者通过瘤胃壁时转变成 β-羟丁酸，参与三羧酸循环[15]。此外，丁酸可刺激瘤胃上皮发育，促进营养物质的消化吸收[16]。本试验中，Ⅱ组山羊瘤胃液乙酸、T-VFA 浓度和（乙酸+丁酸）/丙酸与Ⅰ组相比均极显著增加，而这与马惠忠[17]研究得出的饲粮中精料比例增加时乙酸浓度减少不符，可能在本试验条件下Ⅱ组山羊采食的粗料较Ⅰ组多，导致二者精粗比变化不明显。添加复合抗菌肽后山羊瘤胃液乙酸、T-VFA 浓度和（乙酸+丁酸）/丙酸与Ⅱ组相比显著减少，与Ⅰ组差异不显著。这与前人在体内试验中添加酿酒酵母（1 g/kg）[18]或体外试验中添加酿酒酵母（20~60 mg/mL）[19]、产朊假丝酵母（2.67×10^6 CFU/mL）[20]提高瘤胃液 T-VFA 浓度的结果不一致，可能是Ⅲ组山羊采食的粗料较Ⅱ组少，说明复合抗菌肽能抑制山羊采食粗料，提高精料的比例，进而促进机体能量代谢。

CH_4 不仅是一种重要的温室气体，也是反刍动物能量损失的主要因素，因此抑制 CH_4 产生一直是反刍动物营养研究的重点。在本试验中，在第 60 天，Ⅲ组与Ⅱ组相比瘤胃液 CH_4 浓度减少了 17.17%，说明复合抗菌肽可抑制山羊瘤胃中 CH_4 的产生，从而提高饲料利用率。

3.2 复合抗菌肽对山羊瘤胃液氮素浓度的影响

NH_3-N 是瘤胃氮代谢中的重要产物，它反映了能量供应和饲料中蛋白质在瘤胃中的降解和吸收的程度。在 ATP 充足条件下，瘤胃微生物利用饲料蛋白质以及多肽、氨基酸、氨和尿素为氮源，并以 VFA 为碳架合成 MCP。研究发现，NH_3-N 浓度过低（少于 0.025 mg/mL）会导致瘤胃发酵发生解偶联作用，进而导致 MCP 产率减少；反之，NH_3-N 浓度过高，细菌不能完全利用 NH_3-N 合成 MCP，NH_3-N 积累过量，导致血浆中尿素氮浓度升高，一方面影响瘤胃微生物的生长，另一方面加重机体氮代谢的负担[21]。

对瘤胃微生物生长的最适 NH_3-N 浓度的研究报道不尽一致，一般认为最适范围在 0.05~0.28 mg/mL[21-22]。本试验中，Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ组山羊瘤胃液 NH_3-N 浓度变动范围分别为 7.32~14.00 mg/dL、12.53~17.79 mg/dL 和 11.95~16.49 mg/dL 均处于 NH_3-N 浓度最适范围内。添加复合抗菌肽后（Ⅲ组）山羊瘤胃液中尿素氮浓度显著低于Ⅱ组，略高于Ⅰ组，且 MCP 浓度显著增加，到试验第 60 天与Ⅰ组相比提高了 39.15%，与Ⅱ组相比提高了 15.32%，说

明复合抗菌肽能增加山羊瘤胃微生物对饲料蛋白质的利用率，进而促进机体的生长发育。这与 Tripathi 等[23]将克鲁维酵母、酿酒酵母和啤酒酵母单独或按照 1:1:1 比例配合成复合活酵母饲喂羔羊，连续饲喂 91 d 后发现瘤胃液 MCP 浓度增加，改善了饲料转化率的试验结果相一致。

3.3 复合抗菌肽对山羊瘤胃液酶活性的影响

反刍动物在长期进化中形成了一套完整的降解纤维素体系，其复杂而庞大。羧甲基纤维素酶是一类内切纤维素酶，可从纤维聚合体的非结晶区，从内部水解 β-1,4-糖苷键，产生纤维二糖、葡萄糖和麦芽糊精。β-葡萄糖苷酶主要将纤维二糖进一步水解成葡萄糖。木聚糖是最重要的半纤维素，其结构复杂，降解需要多种酶参与，这些酶包括切割主链的内切 β-木聚糖酶、β-1,4-木糖苷酶，切割侧链的葡萄糖苷酶等。纤维素酶主要由瘤胃内细菌和原虫分泌。原虫的密毛属、多加多泡属和内毛属主要通过产生 β-葡萄糖苷酶、羧甲基纤维素酶和木聚糖酶来降解纤维素，但其具体作用尚不明确。瘤胃内降解纤维素的细菌种类较多，如产琥珀丝状杆菌、黄色瘤胃球菌、白色瘤胃球菌、溶纤维丁酸弧菌等主要分泌木聚糖酶、β-葡聚糖酶等。此外，瘤胃内真菌也能分泌果胶酶、纤维素酶和半纤维素酶[24]。本试验中，与Ⅰ组相比，Ⅱ和Ⅲ组山羊瘤胃液木聚糖酶和果胶酶活性均升高，且后者能使由于高精料降低的 β-葡萄糖苷酶和羧甲基纤维素酶活性升高，但仍低于Ⅰ组。这与黄庆生等[25]得出的酵母培养物提高肉牛瘤胃液木聚糖酶活性的试验结果一致，但其研究中瘤胃液羧甲基纤维素酶活性也显著增加，造成这种差异的原因可能与添加剂的种类、生物功能以及试验动物种类有关。本试验中，添加复合抗菌肽后山羊瘤胃液 β-葡萄糖苷酶活性无显著变化，这与 Kamra 等[26]得出的饲喂犊牛酵母细胞（5×10^9 个/mL，10 mL，连续饲喂 159 d）不影响瘤胃液 β-葡萄糖苷酶活性的研究结果相一致。

瘤胃内存在较多降解蛋白质的细菌、真菌和原虫，但真菌和原虫降解蛋白质的能力较弱，当前研究较多的是嗜淀粉拟杆菌、栖瘤胃普雷沃氏菌和溶纤维丁酸弧菌，其数量多、降解蛋白质活性强，是蛋白质降解的主要菌群[14]。本试验中，添加复合抗菌肽后对山羊瘤胃液中性蛋白酶活性没有发生显著变化。目前尚未见关于抗菌肽对瘤胃液中性蛋白酶活性影响的研究报道。以往研究发现，饲粮精粗比（3:7、5:5、7:3）、蛋白质源（大豆粕、大豆粕+棉籽粕+菜籽粕、鱼粉+棉籽粕+菜籽粕、膨化大豆、清蛋白）、碳水化合物结构对瘤胃液中性蛋白酶活性均无显著影响，说明瘤胃液中中性蛋白酶的活性比较稳定，难以变化[14,24,27]。

瘤胃内的淀粉大部分在微生物分泌的淀粉酶作用下分解成麦芽糖，最终产生 VFA 为机体提供能量[14,28]。瘤胃内牛链球菌、丁酸梭菌和嗜淀粉瘤胃杆菌是主要的分解淀粉的细菌，

其能分泌较高活性的淀粉酶，降解淀粉活性强[24]。此外，瘤胃内毛虫和部分真菌也具有分解淀粉的能力，但其具体作用机制尚不明确，有待进一步研究。一般认为，饲料和瘤胃 pH 是影响瘤胃微生物酶活性的主要因素[29]。本试验中，添加复合抗菌肽后对山羊瘤胃液淀粉酶活性无显著影响。这与何丹林等[30]在鸡饲粮中添加 500 g/t 蚕抗菌肽 AD-酵母制剂、刘翠玲[31]在鲤鱼饲料中添加 3 g/kg 抗菌肽对肠道淀粉酶活性无显著影响以及 Kamra 等[26]饲喂犊牛添加酵母细胞的饲粮后瘤胃淀粉酶活性无显著变化的结果一致。

目前，尚未见抗菌肽对反刍动物瘤胃液脂肪酶活性影响的研究报道，但有在其他畜禽动物和水产动物上的研究报道。刘翠玲[31]在鲤鱼基础饲料中添加水产专用抗菌肽(3 g/kg)，连续饲喂 56 d，发现鲤鱼后肠段脂肪酶活性显著增加；郭威等[32]在仔鸡基础饲粮中添加 0.5%或 1.0%产脂肪酶芽孢杆菌菌剂，发现仔鸡肠道脂肪酶活性显著增加；范国歌[33]在仔猪基础饲粮中添加 0.05%或 0.10%复合益生菌（由枯草芽孢杆菌、乳酸菌、酵母菌组成），连续饲喂 60 d，结果粪便中脂肪酶活性显著高于对照组。本试验中，II 和III组山羊瘤胃液脂肪酶活性较 I 组极显著提高，与前人研究结果[31-33]一致。

4 结 论

复合抗菌肽调节山羊瘤胃发酵模式，产生较多的丙酸，降低 CH_4 产生，促进脂肪分解，提高饲料利用率，改善瘤胃发酵内环境，是理想的饲料添加剂。

参考文献：

[1] DAI T H,HUANG Y Y,SHARMA S K,et al.Topical antimicrobials for burn wound infections[J].Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery,2010,5(2):124–151.

[2] LEGUEN E,CHASSEPOT A,DECHER G,et al.Bioactive coatings based on polyelectrolyte multilayer architectures functionalized by embedded proteins,peptides or drugs[J].Biomolecular Engineering,2007,24(1):33–41.

[3] MARSHALL S H,ARENAS G.Antimicrobial peptides:a natural alternative to chemical antibiotics and a potential for applied biotechnology[J].Electronic Journal of Biotechnology,2003,6(3):271–284.

[4] LI Y M,XIANG Q,ZHANG Q H,et al.Overview on the recent study of antimicrobial peptides:origins,functions,relative mechanisms and application[J].Peptides,2012,37(2):207–215.

[5] 李冠楠,夏雪娟,隆耀航,等.抗菌肽的研究进展及其应用[J].动物营养学报,2014,26(1):17–25.

[6] OTVOS L,Jr,INSUG O,ROGERS M E,et al.Interaction between heat shock proteins and antimicrobial peptides[J].Biochemistry,2000,39(46):14150–14159.
[7] WU S D,ZHANG F R,HUANG Z M,et al.Effects of the antimicrobial peptide cecropin AD on performance and intestinal health in weaned piglets challenged with *Escherichia coli*[J].Peptides,2012,35(2):225–230.
[8] CHOI S C,INGALE S L,KIM J S,et al.An antimicrobial peptide-A3:effects on growth performance,nutrient retention,intestinal and faecal microflora and intestinal morphology of broilers[J].British Poultry Science,2013,54(6):738–746.
[9] 徐名能,黄木家,李永新,等.日粮添加抗菌肽制剂对荷斯坦牛乳中体细胞数的影响[J].中国奶牛,2011,16(16):41-43.
[10] LUO C C,YIN D Y,GAO X J,et al.Goat mammary gland expression of Cecropin B to inhibit bacterial pathogens causing mastitis[J].Animal Biotechnology,2013,24(1):66-78.
[11] LUO C,CAI S Y,JIA L Y,et al.Study on accurate determination of volatile fatty acids in rumen fluid by capillary gas chromatography[C]//Proceedings of the 5th International Conference on Information Engineering for Mechanics and Materials.Amsterdam：Atlantis Press,2015:386–391.
[12] MOSS A R,JOUANY J P,NEWBOLD J,et al.Methane production by ruminants:its contribution to global warming[J].Annales De Zootechnie,2000,49(3):231–253.
[13] BRODERICK G A,KANG J H.Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media[J].Journal of Dairy Science,1980,63(1):64-75.
[14] 冯仰廉.反刍动物营养学[M].北京:科学出版社,2006.
[15] MCDONALD P,EDWARDS R A,GREENHALGH J F D,et al.动物营养学[M].王九峰,李同洲，译.北京:中国农业大学出版社,2007.
[16] TAMATE H,MCGILLIARD A D,JACOBSON N L,et al.Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf[J].Journal of Dairy Science,1962,45(3):408–420.
[17] 马惠忠.不同精粗比日粮对内蒙古白绒山羊瘤胃发酵和瘤胃微生物区系的影响[D].硕士学位论文.呼和浩特:内蒙古农业大学,2008.
[18] LASCANO G J,HEINRICHS A J.Rumen fermentation patterns of dairy heifers fed restricted

amounts of high,medium,and low concentrate diets and the addition of *Saccharomyces cerevisiae*[J].Journal of Animal Science,2007,86(Suppl.1):109.)

[19] LILA Z A,MOHAMMED N,TAKAHASHI T,et al.Increase of ruminal fiber digestion by cellobiose and a twin strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells *in vitro*[J].Animal Science Journal,2006,77(4):407–413.

[20] 庞德公,杨红建,曹斌斌,等.高精料全混合日粮中产朊假丝酵母添加水平对体外瘤胃发酵特性和纤维降解的影响[J].动物营养学报,2014,26(4):940–946.

[21] SATTER L D,SLYTER A L L.Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*[J].British Journal of Nutrition,1974,32(2):199–208.

[22] COTTA M A,RUSSELL J B.Effect of peptides and amino acids on efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture[J].Journal of Dairy Science,1982,65(2):226–234.

[23] TRIPATHI M K,KARIM S A.Effect of individual and mixed live yeast culture feeding on growth performance,nutrient utilization and microbial crude protein synthesis in lambs[J].Animal Feed Science and Technology,2010,155(2/3/4):163–171.

[24] 孙宏选.不同来源的蛋白质和非结构性碳水化合物对泌乳奶牛瘤胃微生物酶活性的影响[D].硕士学位论文.北京:中国农业科学院,2006.

[25] 黄庆生,王加启.添加不同酵母培养物对瘤胃纤维分解菌群和纤维素酶活的影响[J].畜牧兽医学报,2005,36(2):144–148.

[26] KAMRA D N,CHAUDHARY L C,AGARWAL N,et al.Growth performance,nutrient utilization,rumen fermentation and enzyme activities in calves fed on *Saccharomyces cerevisiae* supplemented diet[J].Indian Journal of Animal Sciences,2002,72(6):472–475.

[27] 刘清清.日粮精粗比对绵羊消化和瘤胃消化代谢的影响[D].硕士学位论文.晋中:山西农业大学,2014.

[28] 段迎凯,蒋洪文,薛白,等.瘤胃灌注不同来源淀粉对牦牛瘤胃发酵及血清生化指标的影响[J].动物营养学报,2012,24(8):1484–1492.

[29] 李亚学,王佳堃,孙华,等.不同精粗比下添加维生素 B_{12} 对体外瘤胃发酵和微生物酶活力的影响[J].动物营养学报,2012,24(10):1888–1896.

[30] 何丹林,温刘发,邓春柳,等.蚕抗菌肽 AD-酵母制剂对粤黄鸡肠道消化酶和饲料品质的影响[J].中国家禽,2004,26(7):9–10.

[31] 刘翠玲.饲料中添加微生态制剂、抗菌肽及其复合制剂对鲤鱼生长、消化和非特异性免疫相关酶活性的影响[D].硕士学位论文.上海:上海海洋大学,2015.

[32] 郭威,郭晓军,袁洪水,等.产脂肪酶芽孢杆菌对仔鸡生长性能、肠道脂肪酶活力和微生物菌群的影响[J].中国饲料,2016(14):19–21,25.

[33] 范国歌.高效复合益生菌的研制及对仔猪生产性能影响的研究[D].硕士学位论文.郑州:河南农业大学,2011.

Effects of Compound Antimicrobial Peptides on Ruminal Fermentation and Enzyme Activities of Goats

GAO Shuang DENG Junliang* CHEN Yun YANG Yanyi LIU Qi CHEN Chong REN Zhihuang ZUO Zhicai WANG Ya CUI Hengmin

(*Key Laboratory of Environmental Hazard and Animal Diseases, Key Laboratory of Animal Disease and Human Health, College of Veterinary, Medicine of Sichuan Agricultural University, Chengdu* 611130, *China*)

Abstract: This experiment was evaluated to study the effects of compound antimicrobial peptides (C-AMPs) on ruminal fermentation and enzyme activities of goats fed diets with different concentrates. Eighteen 4-month-old male goats were randomly divided into 3 groups (*n*=6). These included control group (group Ⅰ), high-concentrate group (group Ⅱ), and high-concentrate antimicrobial peptide group (group Ⅲ), and fed with 300, 600 and 600 g concentrate per head per day, respectively. Moreover, the concentrate of group Ⅲ supplemented with 3.0 g C-AMPs per head per day. The experiment lasted for 60 days. The results showed as follows: relative to the group Ⅰ, the group Ⅱ showed a significant increase in the concentrations of acetate, total volatile fatty acids (T-VFA), methane (CH_4), ammoniacal nitrogen (NH_3-N), urea nitrogen, microprotein (MCP), the ratio of （acetate+butyrate）to propionate, the activities of xylanase and lipase in rumen fluid （P<0.01 or P<0.05）, and showed a significant decrease in the activities of carboxymethyl cellulose (CMCase), β-glucosidase and amylase （P<0.01 or P<0.05）, but did not show a significant change in the concentrations of propionate and butyrate, and the activities of pectinase and neutral protease （P>0.05）. Relative to the group Ⅱ, the group Ⅲ had no significant change in the concentrations of propionate, butyrate, NH_3-N and the activities of

*Corresponding author, professor, E-mail: dengjl213@126.com (责任编辑 菅景颖)

CMCase, pectinase, neutral protease and lipase（*P*>0.05）, but the group Ⅲ showed a significant decrease in the concentrations of acetate, T-VFA, CH_4, urea nitrogen, the ratio of （acetate+butyrate）to propionate and the activity of xylanase (*P*<0.01 or *P*<0.05), and showed a significant increase in the concentration of MCP and the activities of β-glucosidase and amylase （*P*<0.01 or *P*<0.05）. The results indicate that dietary C-AMPs can modulate ruminal fermentation model and enhance feed conversion rate, and it can be applied as an ideal feed additive.

Key words: compound antimicrobial peptides; ruminal fermentation; enzyme activities; goats